

SERBEST RADİKALLER VE KANSER - GENEL BİLGİLER -

Osman KOZLUCA *

Yeryüzünde hayatın doğuşuna serbest radikallerin neden olduğuna inanılmakla birlikte bunlar aynı zamanda destrüksiyon ve hücre ölümünde temel neden olarak kabul edilmektedir. Radyasyon, çevresel kimyasallar ve diğer toksik maddelere maruz kalmak diğer bir çok patolojik prosede olduğu kadar insan kanserlerinin gelişiminde önemli roller oynamaktadır. Karsinogenez için yapılan çalışmalar bu kimyasalların etkilerini göstermeleri için vücudun enzim sistemlerini kullanarak metabolize edilmeleri gerektiğini vurgulamaktadır. Kabul edilen hipotez bu kimyasalların vücutta elektrofilik metabolitlere dönüştüğü (radikaller) bunlarında nükleofilik DNA ile kovalent bağlanmak suretiyle reaksiyona girdiği ve sonuçta ortaya çıkan DNA daki lezyonların onkogen aktivasyonuna yol açtığı şeklindedir.

Gerek çevredeki ve gerekse vücuda giren kimyasalların metabolize edilmesi sonuçta ortaya çıkan (bunlar vücudun normal metabolik faaliyetleridir) serbest radikallerin hücreleri tahrip ettiği ve gen programlarını değiştirdiği gösterilmiştir (10).

Son çalışmalarda canlı organizmalarda oluşan serbest radikallerin kalp hastalıkları, Parkinson, Alzheimer hastalığı, serebrovasküler hastalıklar, nörosensoryel bozukluklar, katarakt ve romatoid artrit yanarda kanser gelişiminde de önemli rol oynadıkları gösterilmiştir. Keza yaşlanma prosesinde cilt kırışıklıkları, böbrek fonksiyonlarında azalma ve immün hastalıklara yatkınlığının artması gibi tablolara da serbest radikallerin neden olduğu bildirilmektedir (4).

Serbest radikaller hem tabii yoldan hem de endüstriyel işlemler sırasında çoğu O_2 reaksiyonlarında oluşmaktadır. Örneğin: Organik maddelerin havada çürümesi, plastiklerin işlenmesi, boyaların kuruması sırasında ve tamamen doğal bir işlem olan mitokondrilerdeki oksidatif fosforilasyon sürecinde araşidonik asitten (AA) tromboksan, prostoglandinler ve lökotrienler oluşumunda, benzer biçimde inflamatuvar reaksiyonlarda makrofaj ve granülositlerin respiratuvar patlaması yoluyla üretilmektedir. Ayrıca radyasyon gibi fiziksel faktörlere maruz kalma neticesinde iyonizasyon ve serbest radikal oluşumu gündeme gelmektedir. Bunların dışında ısı, ağır egzersiz, sigara, hava kirliliği, pestisitler, asbestoz ve diğer bir çok karsinojen, fenobarbital, diyet yağları ve antikanser ilaçlar gibi pek çok faktör serbest radikal oluşumuna ve hücre hasarına neden olabilir.

YAPILARI, VÜCUTTA OLUŞTURDUKLARI REAKSİYONLAR VE SAVUNMA MEKANİZMALARI

Serbest radikaller negatif yüklü elektron sayısının nükleustaki pozitif yüklü proton sayısı ile eşit olmadığı moleküllerdir. Elektron konfigürasyonlarını pozitif yükü dengelemeleri gerektiğinden çok reaktiftirler. Eşleşmemiş elektron fazlası olan bir serbest radikal bağlanabileceği bir molekül arar. O_2 radikali başka bir molekülden elektron aldığında diğer molekülü anstabil hale getirir. Serbest radikaller vücutta önemli moleküllere zarar veren bir seri reaksiyonu başlatabilir, ve sonuçta hücre ölümüne neden olabilir (4).

Hücrede oluşan başlıca serbest radikaller tek bir elektronun moleküler oksijene eklendiği süperoksit radikalleri (O_2^-) ve bu radikallerin bazı metal iyonlarının mevcudiyetinde (Fe^+) H_2O_2 ile reaksiyona girmesi neticesi oluşan daha reaktif OH radikalleridir. O_2 radikallerinin patolojik prosesleri bu radikaller çok fazla sayıda olmadıkça başlamaz (1).

Oksijen radikallerinin hücumuna uğrayabilecek önemli vücut yapıları arasında proteinler (enzimler, kollagen) nörotransmitterler, genetik materyaldeki nükleik asitler (mutasyon olur), membrandaki yağ asitleri vardır. Hücre membranlarındaki yağ asitleri oksitlendiğinde membran bütünlüğü bozulur ve hücre penetrasyonu müsait hale gelir. Oluşan lipid peroksitler selüler hasara yol açan metabolizmayı ilerleten ve kan akımını azaltan potent kimyasal maddelerdir. Lizozomal membranların peroksidasyonu neticesinde hidrolazlar sitoplazmaya yayılarak hücrenin ölümüne neden olurlar (4).

Hastalıklı bir dokuda lipid peroksitlerin mevcudiyeti hücre hasarının nedeni olabileceği gibi bir hastalığın sonucu olarakda meydana gelebilir. Mesela inflamatuvar ortamlarda nötrofiller serbest radikallerin oluşumuna neden olmaktadır. Aslında serbest radikallerin doğrudan aktive olmuş fagositler tarafından üretilmeleri enfeksiyon ajanlarını öldürmek içindir ve bu anlamda vücut savunmasında bu olayın büyük önemi vardır. Ayrıca bu radikaller nötrofilleri olay mahalline göndermek için kemotaktik bir madde üretmek üzere plazma faktörü ile reaksiyona girerek doğrudan akut inflamatuvar cevap oluşumunda rol oynarlar (1).

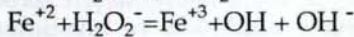
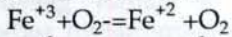
Lipid peroksidasyon zincirinde poliansature

* Kartal Eğitim ve Araştırma Hastanesi Radyoterapi Uzmanı

yağ asitleri suda çözünebilir ürünlere dönüşür ve membran bütünlüğü bozulur (4). Serbest radikal saldırısı altında multiple doymamış yağ asitlerinin atomlarından biri kolaylıkla ayrılabilir ve meydana gelen yağ asiti radikali biokimyasal bir trans formunda yeniden yapılan düzenleme ile stabilize edilir. Ortamda bulunan oksijenin ilavesiyle lipid peroksitler ve hidroperoksitler oluşur (3).

Vücutta *hypoxanthine + Xanthine oxidase* sistemiyle süperoksitler (O_2^-) sürekli olarak oluşmaktadır. Ayrıca dihidrofumarat otooksidasyonu, dialürük asit otooksidasyonu asetaldehid + Xanthine oxidase sistemi ve daha bir çok enzimatik faaliyet neticesinde süperoksitler oluşmaktadır. Süperoksit (O_2^-) radikallerinin enzimatik üretimlerinin keşfi ve aerobik hücrelerde SOD enziminin varlığının ortaya konması O_2^- 'nin oksijen toksisitesinde major faktör olduğunun öngörülmesine yol açmıştır (3). Vücut sıvılarında süperoksit radikalleri dismutasyon reaksiyon reaksiyonlarına uğrayarak daha az reaktif ürünlere dönüşür; $O_2^- + O_2^- + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$. Bu reaksiyonda süperoksitlere karşı ilk ciddi savunma mekanizması olan SOD rol oynamaktadır. Aksi halde bu süperoksitler aşağıdaki reaksiyonla;

$H_2O_2 + O_2^- = OH + OH^- + O_2$ çok daha reaktif OH radikallerinin oluşmasına neden olacaktır. Ayrıca hücrede bulunan Fe^{+3} ün de OH radikal formasyonunda rolü olduğu araştırmacılar tarafından bildirilmektedir (3).



Belli koşullarda süperoksit yapımı sekonder olarak artar ve belirgin selüler toksite ortaya çıkar. Bu durum en çok postiskemik doku hasarında ortaya çıkmaktadır (15). Bu belirli bir iskemi periyodunun arkasından dokuya oksijen geldiğinde oluşmaktadır. İskemi sonucu oluşan serbest radikal fazlalığının primer kaynağı ksantin dehidrogenazdır. Bu enzim normalde elektronların pürin bazlarından nikotinamid dinükleotidin oksitlenmiş formlarına transferini sağlar. Hipoksi esnasında bu enzim hızla ve irreversibl mekanizmayla ksantin oksidaza dönüşür. Ksantin oksidaz elektronlarını direkt oksijene transfer ederek çok miktarda süperoksit oluşturur (6). Hipoksi esnasında sellüler ATP yeni oluşan ksantin oksidaz için mükemmel bir elektron kaynağı olan hipoksantine dönüşmektedir. Süperoksit için gerekli olan son substrat molekül oksijendir. Oksijenlenmiş kanla dokunun reperfüzyonu neticesi bu temin edilir. Noniskemik dokularda ksantin oksidaz ve hipoksantinle perfüzyon hasarı iki katına çıkmaktadır (9).

OH^- radikalleri ayrıca Adr., Bleo. v.b. antineoplastik ajanlarca da husule getirilir. Bu radikaller sağlamlık hücrelerdeki olumsuz etkilerinin yanı sıra bu ajanların antitümör etkilerinde de önemli bir rol oynamaktadır (14). Hücre ölüm mekanizmalarında temel olarak enerji üretim fonksiyonunun bozulması, yüksek hidroperoksit konsantrasyonunda mitokondrial membran potansiyalinin kaybı (Delta q), Ca^{++} iyon regülasyonunun kaybı,

Thiol ve pyridine nükleotidlerinin redox siklusunu içeren kompleks bir dizi olay vardır.

Lipid peroksidasyonu, diğer peroksidatif ve hidrolitik prosesleri içeren endojen ve eksojen oksidatif stres kimyasal veya fiziksel ajanların tipine bağlı olarak vuku bulabilir. Bu tip ajanlara maruz kalma neticesinde hücre içi mekanizmaları kullanılarak bu ajanlar metabolize olmakta ve bir takım reaksiyonlar neticesinde O_2 metabolizması ve Ca^{+2} homeostazında değişiklikler meydana gelmekte ve hadiseler savunma sistemlerini aşarsa genetik materyalin etkilenmesi ve hücre ölümü gibi sonuçlar doğurmaktadır.

Çeşitli kimyasalların metabolize olarak reaktif elektrofiller oluşturmalarında cytokrom P-450 monooxygenase'in rolüne ilişkin bir çok literatür vardır. Ve yine AA'nın PHS (*prostaglandin N Sentetaz*) aracılığı ile prostoglandinlere dönüşümü sırasında kimyasalların okside olduğunu gösteren çalışmalarda vardır. Bu reaksiyonlara kısaca kooxidasyon reaksiyonları denilmektedir. Fiziksel özellikleri, doku dağılımları ve inhibitörlere cevapları bakımından P-450 ve PHS arasındaki farklılık özellikle monooxygenase aktivitesinin düşük olduğu ekstrahepatik dokularda PHS'nin kimyasal metabolizmayı değiştiren bir dönüştürücü enzim gibi fonksiyon gösterebilmesidir. Araştırmalar ayrıca AA metabolizması boyunca kimyasalların kooxidasyonları için çok sayıda mekanizmanın bulunduğunu göstermektedir. Ve bu olaylar kimyasalların nihai toksisitesinin belirlenmesinde önemli roller oynayabilir (9).

Kanserojen olarak bilinen aromatik aminlerin oksidasyonu neticesi nükleofilik DNA ya kovalent olarak bağlanan elektrofilik metabolitlere dönüşümü ve bu yolla karsinogenezde rol oynadığı bu dönüşümünde PHS peroksidaz tarafından katalize edildiği bildirilmektedir. Aflatoxin B1 kanserojen olduğu bilinen bir diğer maddedir. Hepatik P-450 AFB'nin reaktif olan 2,3 dihidro-2,3 epoxy AFB (e-hoxidasyon) dönüşümünü sağlamaktadır. Ekstrahepatik dokularda ise bu dönüşümü PHS sağlamaktadır. AFB metabolitlerinin DNA ya bağlanmasının PHS, lipoksigenaz ve fosfalipaz A2 inhibitörlerinin varlığında azaltıldığı eksperimental deneylerle gösterilmiştir. Ayrıca AFB'nin membran aktif olduğu AA'nın serbestleşmesini ve diğer oksidize radikalleri oluşturmasını stimule ettiği ve bununda AFB etkisini artırdığı öne sürülmektedir. Bir çok diğer bileşikte PHS peroksidaz tarafından kooksidize edilmekte ve in vivo kokarsinojenitede rol oynayan reaktif ara ürünlere dönüştürülmektedir. AA metabolizması sırasında oluşan kooxidasyon reaksiyonları esas olarak kimyasalların aktivasyon ve detoksifikasyonlarında rol oynamaktadır. Bu reaksiyonlar PHS'nin peroksidaz aktivitesine bağlıdır. Tamamen doğal olan bu enzimatik reaksiyonlar ortamında neticede hücre ölümüne kadar giden olayların sorumlusu olan peroksil radikallerinin ortaya çıkması hayatın garip bir cilvesi gibi görülmektedir (9).

Hücrede çeşitli olayların sonucu meydana gelen serbest radikallerin zararlı etkilerine karşı Glutasyon peroksidaz, katalaz, süperoksitdismütaz gibi

bazı savunma mekanizmaları vardır.

Normal olarak oksijen mitokondride redükte olduğunda primer ürün şudur. Bu sitokrom oksidaz moleküller oksijene dört elektron eklenildiğinde oluşan nontoksik bir moleküldür. Elektronların sürekli eklenmesi nedeniyle süperoksit gibi reaktif ara ürünler oluşmaz. Fakat mitokondrilerde işlem gören elektronların %1-2'si süperoksit oluşturmak için elektron transport zincirinin diğer komponentlerinden oksijene bağlanmaktadır (6).

Daha önce yukarıda da belirttiğimiz gibi ferröz hem katekolaminler ve flavonları içeren süperoksit dönüşmek üzere oksijenle spontan reaksiyonlara girer. Bu reaksiyonların bütünü hücrelerin detoksifiye etmesi gereken az ama sürekli bir süperoksit radikal akışını oluşturmaktadır.

Respiratuvar zincirde mitokondriyal oksijenin %2-5'i sürekli olarak H_2O_2 dönüşümüne uğramaktadır. Buna karşı mitokondriyal seviyede glutasyon redox sistemi aşağıdaki reaksiyonlar zinciri ile daha reaktif olan OH^- radikalleri oluşmasını önlemektedir.

Substrat oksidize substrat
 NADH NAD^+
 NADPH ATP kullanılır (transhidrogenaz) $NADP^+$
 GSH Glu. Redüktaz GSSG
 $H_2O_2^-$ - Glu. peroksidaz RDH
 ROOH H_2O (7)

Glutasyon peroksidaz yaklaşık %10-15'i mitokondride lokalize olan hücre nonprotein havuzundan indirgenmiş GSH'i kullanarak bu dönüşümü yapar. Bir çok hayati protein Ca^{+2} bağlı ATP'azları da içeren hücre thiol havuzundaki değişikliklere çok duyarlıdır. Ca^{+2} bağlı ATP'az membran Ca pompası olarak işlev görmektedir ve sitoplazmik Ca^{+2} düşük seviyede tutmaktadır. Bu sistemdeki yetersizlik hücre içi serbest Ca^{+2} seviyesinin yükselmesine bu da uzun bir zincirleme reaksiyon neticesinde hücre ölümüne neden olmaktadır. Özellikle mitokondri seviyesinde katalaz enzim sisteminin olmaması GSH sisteminin önemini artırmaktadır (5). GSH'in sitotoksisite üzerindeki koruyucu rolü ilk olarak Meredith ve Reed tarafından bulunmuştur (13). GSH konusunda yapılan diğer bazı çalışmalarda GSH'in hücre thiol havuzunda yüksek konsantrasyonda bulunması halinde OH^- radikallerinin çöpçüsü gibi fonksiyon gösterdiği (11), buna karşın düşük konsantrasyonlarda ve Fe tuzlarının mevcudiyeti halinde bizzat kendisinin OH^- radikalleri oluşumuna neden olduğu bildirilmektedir.

Glutasyonun oluşmuş bulunan OH^- radikallerini süpürme fonksiyonu aşağıdaki reaksiyonla olmaktadır.

$GSH + OH^- \rightarrow GS + H_2O$

Burada OH^- , den daha az reaktif olan (GS) thiol radikalleri ortaya çıkmaktadır. Reaksiyon zinciri aşağıdaki şekilde devam ederek...

$GS + GS \rightarrow GSSG$ Dimerizasyonla GSH disülfid oluşmaktadır.

Bu da organizma için zararsız bir formdur.

Bu reaksiyonlarda GSH hücre içinde NADPH ya bağlı glutasyon redüktaz tarafından yeniden üretilir. Nitrozurea gibi anti kanser ilaçların bu enzimi inhibe ettiği intrasellüler GSH'i deplase ettiği bildirilmektedir. Buna karşın sülfür içeren bileşiklerin (sistein, methionin gibi) GSH içeriğini artırdığı bildirilmektedir (8). SH içeren bileşikler bu anlamda radyasyon ve etki mekanizmalarında serbest radikaller bulunan antineoplastik ajanlara karşı hücreyi korumaktadır.

Diğer sellüler defans mekanizmalarına selüler komponentler zarar görmeden önce serbest radikallerle reaksiyona giren antioksidanlar da dahildir.

Sonuçta, bir çok normal metabolik prosesin vücutta serbest radikal oluşumuna sebep olması nedeniyle bazı bilim adamları evolüsyonun canlılarda devamlı bir genetik değişim ve yeni, hatta belkide daha gelişmiş nesiller için yer bırakmak açısından kendi kendini yok eden bir düğme temin etmekte olduğunu ileri sürmektedirler. Canlı organizmalarda oksijen radikallerinin oynadığı diğer faydalı roller arasında bakteriyel ve viral invazyonu molekülden moleküle enerji transferine yardım ederek önlemedeki rolüdür. Yukarıda anlatmaya çalıştığımız gibi bir çok hastalığın etyopatogenezinde rolü olan bu arada yaşlanma prosesinde ve kanser gelişimindeki etkileri giderek daha belirginleşen serbest radikallerin söndürücü, süpürücü ve oluşumunu önleyici ve oluşturduğu zararlara karşı defansa katkı yapıcı ilaçların geliştirilmesi konusunda çalışmalar giderek yoğunlaşmaktadır.

Bu konuda bilinen antioksidanları dışında bir çok deneysel maddenin etkinliği literatürden anlaşılmaktadır. Buraya kadar verilen bilgilerden anlaşılacağı gibi serbest radikaller hayli geniş ve ilginç bir araştırma sahası oluşturmaktadır.

Kanser alanında tedavi maksadı ile kullanılan ajanlara katkı yapacak, hatta bu konudaki yaklaşımlarda büyük değişimlere yol açacak ilaçların geliştirilmeleri sürpriz olmayacaktır. Daha da önemlisi kanserin önlenmesi konusunda tüm dünyada yeni bir yaklaşım seferberliği doğmasını sağlayabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Arthur MSP. Oxygen derived free radicals promote hepatic injury in the rat. *Gastroenterology*. 89;1114 -22, 1985.
2. Babson JR. Protective role of the glutathione redox cycle against adriamycin mediated toxicity in isolated hepatocytes. *Biochem Pharmacol*. 30; 2299 - 304, 1981.
3. Barry Halliwell. Role of iron in oxygen radical reactions methode. In: *Enzymol*, Vol 105 : 47 - 56, 1985.
4. Brody EJ. The destructive potential of free oxygen radicals. *International Herald Tribune*. April 2 : p4 - 5, 1988.
5. Chance B. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*, 59; 527 - 605, 1979.
6. Del Meastro RF. An approach to free radicals in medicine and biology. *Acta Physiol Scand (suppl)* 492 :

153 - 68, 1980.

7. Donald J R. Glutathione Toxicological Implications. *Annu. Rev. Pharmacol Toxicol.* 30 : 603 - 31, 1990.

8. Donald J R. The role of methionine in glutathione biosynthesis by isolated hepatocytes. *Biochem Biophys. Res. Commun.* 77 : 1257 - 64, 1977.

9. Eling Te. Prostaglandin synthase and xenobiotic oxidation. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 30 : 1 - 45, 1990.

10. Hassun HM. Oxygen toxicity and mutagenesis in prokaryotes. In : Cohen G. Greenwold RA., eds. *Oxy Radicals and Their Scavenger System. Vol. I.*: New York, Elsevier Biomedical, 1983 ; 198 - 206.

11. Koichi Sakurai. Inhibitory effect of glutathione on the generation of hydroxyl radicals in the reaction

system of glutathione - Alloxan. *Chem. Pharmacol Bull.* 39 : 3; 737 - 742, 1991.

12. Mc Cord JM. Oxygen derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Eng J Of Med.* 312:159-63, 1985.

13. Meredith M. Status of mitochondrial pool of glutathione in the isolated hepatocyte. *J Biol Chem.* 257: 3747 - 53, 1982.

14. Seiichi Matsugo. Mechanism of decomposition of cyclic peroxides. 4 - alkoxy - 1, dihydro -2,3 - benzodioxine -1 - ols. to Afford Hydroxyl Radical. *Chem Pharmacol Bull.* 39 (3) : 545 - 548, 1991 .

15. Weisiger AR. Oxygen radicals and ischemic tissue injury. *Gastroenterology.* 90 (2):494 - 496, 1986.